

# ヒト肺内血管の発達様式と気道上皮 - 血管内皮の相互作用に関する免疫組織化学的研究

著者	前田 寿美子
号	1905
発行年	2002
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/22348">http://hdl.handle.net/10097/22348</a>

氏 名（本籍）  
前<sup>まえ</sup> 田<sup>だ</sup> 寿<sup>す</sup> 美<sup>み</sup> 子<sup>こ</sup>

学 位 の 種 類  
博 士（医 学）

学 位 記 番 号  
医 博 第 1 9 0 5 号

学位授与年月日  
平 成 14 年 3 月 25 日

学位授与の条件  
学位規則第 4 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻  
東北大学大学院医学系研究科  
（博士課程）外科学系専攻

学 位 論 文 題 目  
Immunohistochemical Analysis of Intrapulmonary Vessels and Epithelial-Endothelial Interactions of the Human Developing Lung  
（ヒト肺内血管の発達様式と気道上皮－血管内皮の相互作用に関する免疫組織化学的研究）

（主 査）  
論文審査委員  
教授 近 藤 丘 教授 笹 野 公 伸  
教授 名 倉 宏 教授 貫 和 敏 博

# 論文内容要旨

## 目 的

肺が担う最も重要な働きはガス交換である。無数の微小な肺胞を毛細血管が被うことにより、肺は薄く巨大な面積の血液ガス関門を獲得する。この血液ガス関門に不可逆的な異常を来すことは、新生児から成人にいたるまで、常に生命を脅かす重篤な疾患の原因となる。したがって、生理的血液ガス関門が完成される機序を知ることは、病態理解や新しい治療法の確立のために重要である。肺胞毛細血管はトロンボモジュリン (TM) 陽性、フォンウィルブランド因子 (vWF) 陰性であり、他の肺血管とは形質が異なることが知られている。そこで本研究では、生理的血液ガス関門の形成過程を、特に血管内皮の形質に着目して検討した。

## 方 法

東北大学医学部倫理委員会の承認をへて得られたヒト胎児肺と成人肺を、ホルマリン固定パラフィン包埋して  $2.5\mu\text{m}$  に薄切した。まず、肺内血管の構造と気道との位置関係を知るため、pseudoglandular phase の胎児肺 3 例の連続切片に対して抗 CD 34 抗体と抗  $\alpha$ -smooth muscle actin (SMA) 抗体を用いた二重免疫染色を施行した。投影機を用い 200 倍で CD 34 陽性部位、SMA 陽性部位と気道上皮の基底膜をトレーシング用紙に複写した。この連続線画の位置情報をデジタイザを用いてコンピューターに入力し、三次元再構築像を作成した。次に、胎生時期による肺血管の形質変化を知るため、pseudoglandular phase : P 期, canalicular phase : C 期, terminal sac phase : T 期の胎児肺と成人肺に対しそれぞれ CD 34, TM, vWF と SMA に対する二重染色を施行した。CD 34, TM, vWF 各抗原の分布は、SMA との共染の有無で筋性血管と毛細血管に二大別して計量し、定量化した。さらに vascular endothelial growth factor (VEGF) とその転写因子の一つである hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) の免疫染色と定量的 PCR 法を施行し、気道上皮における VEGF, HIF-1 $\alpha$  の分布と肺血管との関係を検討した。

## 結 果

CD 34 と SMA に対する二重免疫染色では、P 期初期胎児肺には SMA 陽性の壁細胞を有し気道の近傍に存在するものと、壁細胞は持たず間質に散在するものの二種類の血管が存在した。三次元再構築像において、P 期中期に壁細胞を持たない毛細血管は次第に気道末端部において網目状構造を形成した。壁細胞を有する筋性血管は気管支に沿って肺末梢側へ伸長し、P 期後期には

末端部の毛細血管網と吻合した。肺血管の形質はP期では筋性血管、毛細血管どちらもTM陽性の内皮細胞は少なく、vWFはいずれの血管内皮にも広く認められた。C期では気道末端部周囲に毛細血管が増加し、TMの分布も広がった。vWFは次第に筋性血管に発現が限局した。T期には気道末端部の毛細血管は成人肺泡毛細血管と同様のTM陽性、vWF陰性の形質を獲得した。これらの変化を定量評価すると、全TM陽性血管の中で毛細血管の占める割合は54%から80%に増加したが、vWFは60%から28%にまで減少した。VEGFは広く気道上皮に発現し、C期では気道末端部により強い染色性が認められた。一方、HIF-1 $\alpha$ の発現は気道末端部に強く発現し、中枢側上皮には弱く認められた。定量的PCR法によるVEGFの遺伝子発現は発達に従い徐々に増加したが、HIF-1 $\alpha$ の発現はC期に著明に増加した。

## 考 察

以上の結果から、肺血管は中枢側から順に枝分かれをして最終的に気道末端で毛細血管網を形成するのではなく、末梢側で間質細胞が血管内皮細胞に分化して網目状構造をとり、中枢側から気道に沿って伸長する血管と吻合することで形成されと考えられた。肺内血管の形質はP期にはvWF優位であったが、T期には気道末端部に存在する毛細血管は、TM陽性vWF陰性の形質を獲得したことから、肺血管は胎児期にその数を増やすと同時に成人型の形質に成熟すると考えられた。血管内皮細胞に対しTMの発現を誘導すると報告されているVEGFは、C期に気道末端部により強く発現することで、周囲の血管内皮細胞の形質をTM陽性に変化させるものと考えられた。HIF-1 $\alpha$ は気道末端部に主に発現し、VEGFの発現を局所的に調節している可能性が想定されたが、詳細は今後の検討を要すると思われる。

## 結 語

ヒト胎児肺での血液ガス関門の形成及び血管内皮の成熟過程を気道上皮との相互関係において検討した。その結果、生理的血液ガス関門の形成には気道上皮－血管内皮相互作用が深く関与することが示された。これらの知見は、病態解明や治療法改善に貢献するものと考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

肺が担う最も重要な働きはガス交換である。ガス交換の場となる血液ガス関門は肺胞上皮と肺胞毛細血管の接点であり、この点で肺胞毛細血管は肺の機能血管であるといえる。近年、肺胞毛細血管は thrombomodulin (TM) 陽性、von Willebrand factor (vWF) 陰性であることが報告された。本研究では肺内血管の発達成熟過程を知るために、ヒト胎児肺と成人肺を対象として、肺内血管構築の発達、肺血管内皮細胞の形質変化、肺内血管と気道上皮との相互作用、の三つの観点から検討した。

その結果、胎児肺には壁細胞を有し気道の近傍に存在するものと、壁細胞を持たず間質に散在するものの二系統の血管が存在した。三次元再構築像において、壁細胞を持たない毛細血管は次第に気道末端部において網目状構造を形成した。壁細胞を有する筋性血管は気管支に沿って肺末梢側へ伸長し、末端部の毛細血管網と吻合する様子が観察された。肺血管の形質は Pseudoglandular 期では筋性血管、毛細血管どちらも TM 陽性の内皮細胞は少なく、vWF はいずれの血管内皮にも広く認められた。Canalicular (C) 期では気道末端部の周囲に毛細血管が増加し、TM の分布も広がった。vWF は次第に筋性血管に発現が限局した。Terminal sac (T) 期には気道末端部の毛細血管は成人肺胞毛細血管と同様の TM 陽性、vWF 陰性の形質を獲得した。Vascular endothelial growth factor (VEGF) は広く気道上皮に発現していたが、C 期では気道末端部により強い染色性が認められた。一方、Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) の発現は気道末端部に強く、中枢側上皮には弱かった。定量的 PCR 法による VEGF の遺伝子発現は発達に従い徐々に増加したが、HIF-1 $\alpha$  の発現は C 期に著明に増加した。以上から、肺内血管系の発生には Vasculogenesis と Angiogenesis の両者が関与すると考えられた。気道末端の肺胞領域に存在する毛細血管は、Vasculogenesis によって発生し、体外呼吸開始前の T 期までに TM 陽性 vWF 陰性の形質を獲得した。in vitro で血管内皮細胞に対し TM の発現を誘導すると報告されている VEGF は、C 期に気道末端部により強く発現することで、周囲の血管内皮細胞の形質を TM 陽性に变化させるものと考えられた。VEGF の誘導因子の一つとして知られる HIF-1 $\alpha$  は、気道末端部に主に発現し、肺発達のある時期 VEGF の発現を局所的に調節している可能性が想定された。

本研究は、胎児の肺内血管系は Vasculogenesis と Angiogenesis によって形成されること、および肺胞毛細血管内皮細胞の形質獲得に気道上皮由来の VEGF が関与する可能性をヒトの肺で初めて示したもので、学位授与に値する優れた研究成果である。